



UNIVERSIDADE DO VALE DO TAQUARI  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**SÍNTESE, OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
HIDROXIAPATITA A PARTIR DA CASCA DE OVO DE GALINHA**

Victória Bonzanini

Lajeado, junho de 2020

Victória Bonzanini

## **SÍNTESE, OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA A PARTIR DA CASCA DE OVO DE GALINHA**

Monografia apresentada à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso de Engenharia Química, da Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, como parte da exigência para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. André Luis Catto

Lajeado, junho de 2020

## RESUMO

Os materiais provenientes de fontes naturais são recursos importantes para a extração e recuperação de diversos compostos importantes, para obtenção de diferentes produtos ou aplicações. A transformação de resíduos em materiais de maior valor agregado requer na maioria dos casos técnicas e abordagens específicas, conforme as características do material avaliado. As biocerâmicas são biomateriais que podem ser utilizados em várias aplicações médicas, dentre as biocerâmicas a hidroxiapatita é a mais empregada na biomedicina. A hidroxiapatita é o tipo de fosfato de cálcio mais estudado nesta área, pelo fato de apresentar biocompatibilidade e osteocondução, além de possuir semelhança com a composição mineral óssea. Neste contexto, o presente trabalho busca analisar a viabilidade da utilização da casca de ovo de galinha como uma fonte de cálcio alternativa para a produção de hidroxiapatita. O óxido de cálcio foi obtido através da calcinação da casca, seguido por uma reação por precipitação química utilizando o ácido fosfórico para obtenção da hidroxiapatita. As amostras de hidroxiapatita obtidas a partir da casca de ovo foram submetidas a análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por dispersão de energia (EDS) e analisada quanto ao tratamento térmico (TGA). A partir do TGA e EDS das cascas de ovo foi possível perceber que esse resíduo é uma fonte viável de cálcio, tornando-se um precursor na formação de hidroxiapatita, apresentando 45,5% em perda de massa enquanto as amostras de hidroxiapatitas obtiveram uma pequena perda de massa de 0,5% e 0,8%, característica de material biocerâmico. A microscopia eletrônica de varredura evidenciou que os parâmetros de síntese empregados conduziu a formação de partículas finas, em formato quase esférico aglomerados. Já através da espectroscopia por dispersão de energia das amostras é possível notar a grande presença de cálcio e fósforo na proporção não estequiométrica com a presença de outros elementos. Comprova-se que a casca de ovo é uma fonte viável de cálcio para a síntese de hidroxiapatita, apresentando uma rota alternativa para esses resíduos em grande abundância, bem como a possibilidade de obtenção de um biomaterial de alto valor agregado proveniente de baixo custo.

Palavras-chave: Hidroxiapatita. Casca de ovo. Síntese. Biomateriais.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do funcionamento da biocompatibilidade .....	16
Figura 2 – Estrutura hexagonal da hidroxiapatita.....	20
Figura 3 – Preparação de hidroxiapatita por precipitação química convencional.....	24
Figura 4 – Preparação de hidroxiapatita por método em estado sólido .....	25
Figura 5 – Preparação de hidroxiapatita por meio do processo sol-gel .....	26
Figura 6 – Processo em duas etapas de preparação de nanopartículas de hidroxiapatita tipo haste em condições hidrotérmicas .....	27
Figura 7 – Fluxograma das etapas para a síntese de hidroxiapatita a partir de cascas de ovo .....	34
Figura 8 - Análise termogravimétrica da casca de ovo de galinha.....	38
Figura 9 - Análise termogravimétrica das amostras de hidroxiapatitas.....	39
Figura 10 - Microscopia eletrônica de varredura da casca do ovo e hidroxiapatitas A) Casca pura; B) Casca C.; C) HIDROXI-1; D) HIDROXI-24.....	42
Figura 11 – Micrografias da hidroxiapatita obtida por Rigo, Gehrke e Carbonari (2007).....	44
Figura 12- Espectroscopia dispersiva da casca de ovo e hidroxiapatitas A) Casca pura; B) Casca C.; C) HIDROXI-1; D) HIDROXI-24.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação de biocerâmicas.....	19
Tabela 2 - Tabela 2 – Quantidades de cada elemento químico presentes pela análise em EDS.....	45

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Comparação entre as diferentes classes de biomateriais .....	17
Quadro 2 – Classificação de biocerâmicas .....	18
Quadro 3 – Comparação dos diferentes métodos para preparação de hidroxiapatita .....	22

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ca:	cálcio
cm <sup>-1</sup> :	centímetro
g:	gramas
kV:	quilowatts
mA:	miliampere
mg:	miligramas
°C/min:	graus Celsius por minuto
°C:	graus Celsius
P:	Fósforo
pH:	potencial hidrogeniônico
FAO:	Food and Agriculture Organization
HA:	Hidroxiapatita
IBGE:	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
TGA:	Análise termogravimétrica
MEV:	Microscopia de varredura
EDS:	Espectroscopia por dispersão de energia

HIDROXI-1: Amostra de hidroxiapatita com 1 hora de envelhecimento

HIDROXI-24: Amostra de hidroxiapatita com 24 horas de envelhecimento

Cu: Cobre



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Objetivos .....	12
1.1.1	Objetivo geral .....	12
1.1.2	Objetivos específicos .....	12
1.2	Justificativa .....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1	Casca de Ovos de Galinha .....	14
2.2	Biomateriais .....	15
2.2.1	Biocerâmicas .....	17
2.2.2	Fosfato de Cálcio .....	18
2.3	Hidroxiapatita .....	20
2.3.1	Procedimentos para síntese de hidroxiapatita.....	21
2.3.1.1	Síntese via precipitação.....	23
2.3.1.2	Síntese via seca.....	25
2.3.1.3	Método sol-gel.....	26
2.3.1.4	Método Hidrotermal.....	27
2.4	Análises para caracterização de hidroxiapatita .....	28
2.4.1	Análise termogravimétrica (TGA).....	28
2.4.2	Análise por Microscopia de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS).....	29
2.5	Aplicações da hidroxiapatita e estudos de caso.....	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1	Materiais .....	33
3.2	Preparação do material e síntese da hidroxiapatita.....	34
3.2.1	Limpeza, secagem e moagem das cascas de ovo .....	34
3.2.2	Calcinação .....	35
3.2.3	Reação de precipitação química .....	35
3.2.4	Secagem e Calcinação .....	36
3.3	Caracterização da hidroxiapatita.....	36
3.3.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia por dispersão de energia (EDS) .....	36
3.3.2	Análise Termogravimétrica (TGA).....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5	CONCLUSÃO.....	49

REFERÊNCIAS.....	50
------------------	----

## 1 INTRODUÇÃO

A evolução dos biomateriais na indústria e na área da saúde não é um fenômeno recente. Alguns estudos estimam sua utilização desde o antigo Egito, na utilização de suturas provenientes de intestinos de gatos (RATNER et al., 2004). A partir de então, a evolução do mercado de biomateriais expandiu-se cada vez mais, seja por sua utilização na saúde, seja por sua aplicabilidade em vista do envelhecimento da população. A investigação sobre o desenvolvimento de novos biomateriais ou manipulação da estrutura e composição de biomateriais existentes, concentra-se na melhoria das propriedades de dispositivos biomédicos. Em geral, os biomateriais são comumente usados como implantes, tecidos e transplantes de órgãos, atuando para restaurar, reparar ou substituir o tecido danificado, a fim de aumentar a expectativa de vida (MOHD PU'AD et al, 2019).

Com o crescimento exponencial na área do desenvolvimento da saúde, o envelhecimento da sociedade tornou-se uma das principais preocupações, recebendo cada vez mais atenção dentro da indústria médica (TRAKOOLWANNACHAI; KHEOLAMAI; UMMARTYOTIN, 2019). De acordo com Sampaio, Carvalho e Brettas (2018), busca-se o desenvolvimento de materiais biodegradáveis que possuam a capacidade de serem incorporados ou mesmo absorvidos pelo tecido hospedeiro, levando ao conceito recente de biomimética, onde procura-se desenvolver materiais que participem de forma ativa na recuperação do tecido, estimulando-o a nível celular. Vassal et al. (2019) sugerem ainda que, com a expectativa de vida da população cada vez mais alta, as complicações advindas de problemas articulares ou do tecido ósseo, podem ser problemas que exigirão da ciência grande atenção.

Levando-se este cenário em consideração, diversas tecnologias têm sido desenvolvidas, como alimentos funcionais e tecnologias médicas. Uma das evoluções tecnológicas mais importantes é a engenharia de tecidos, onde o autoenxerto e aloenxerto são utilizados para a recuperação do tecido danificado. Contudo, estes materiais podem ocasionar doenças infecciosas. A fim de superar esses problemas, os materiais de base biológica, tais como biopolímeros, biocerâmica e biocompósitos, têm sido explorados como materiais para substituição óssea natural (TRAKOOLWANNACHAI; KHEOLAMAI; UMMARTYOTIN, 2019).

A diversidade de aplicações na área de biomateriais, bem como o amplo espectro de sua composição química fazem com que tanto a hidroxiapatita quanto outros fosfatos de cálcio apresentem um grande interesse e possibilidade de utilização como biocerâmicas, conhecidas como uma classe dos biomateriais muito utilizada em implantes ortopédicos (ossos e articulações) e na odontologia (KAWACHI et al., 2000). Como resultado, a hidroxiapatita tem sido intensivamente estudada nos últimos anos como potencial material substituto de ossos, devido à sua semelhança química com o componente mineral dos ossos e dos tecidos rígidos (RAMESH et al., 2016).

Neste sentido, busca-se com este trabalho avaliar a obtenção de hidroxiapatita para uso como biomaterial a partir de resíduos de cascas de ovos de galinha, especialmente por serem resíduos biológicos disponíveis em grandes quantidades, de baixo custo e serem materiais facilmente encontrados na indústria alimentícia e no dia-a-dia de todas as pessoas. Com isso, além de contribuir com o meio ambiente, propondo um destino alternativo para estes resíduos, pretende-se caracterizar e comparar as propriedades dos materiais obtidos, analisando seu potencial como um material biocerâmico de baixo custo para possível substituição de material ósseo.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho é avaliar a obtenção de hidroxiapatita, por meio de um método de precipitação química, utilizando como matéria-prima a casca de ovo de galinha como fonte de cálcio e visando seu potencial uso como um biomaterial.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

Para este trabalho, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar, através de tratamento térmico e sua pureza, se a casca de ovo é uma fonte viável de cálcio para a obtenção de hidroxiapatita.
- Obter a hidroxiapatita a partir da casca de ovo de galinha analisando suas principais propriedades;
- Avaliar a influência do tempo de envelhecimento nas propriedades de hidroxiapatita produzida.

## **1.2 Justificativa**

Procurando aprofundar conhecimentos teóricos vistos durante o curso e desenvolver um trabalho de caráter investigativo e prático, o presente trabalho se justifica pela busca de uma alternativa para o reaproveitamento da grande quantidade de cascas de ovos de galinha que são descartados como resíduos, pois estes materiais possuem alto teor de cálcio e podem assim ser utilizados em aplicações mais nobres, como na obtenção de biomateriais. Como destaque nesta área tem-se a hidroxiapatita, um biomaterial de grande potencial para aplicações na área médica. Assim, a importância do trabalho em termos científicos está no uso de uma matéria-prima de baixo custo, como a casca de ovo, para obter um material

biocerâmico de alto valor agregado, com redução de impactos econômicos e ambientais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Casca de Ovos de Galinha

Os ovos fertilizados, não-fertilizados e embriões de frango são utilizados por seres humanos desde a pré-história, tanto como alimento, quanto no tratamento de diversas doenças, como apontam Waheed et al. (2019). A casca do ovo representa 11% do total em peso do ovo da galinha, constituída por matéria orgânica, apresentando uma composição principal de carbonato de cálcio (94%), uma pequena porcentagem de fosfato de cálcio (1%), carbonato de magnésio (1%) e matéria orgânica (4%) (FIGUEIRA, 2014; SANTOS et al., 2018). Muito conhecido como um dos produtos que está sempre presente à mesa dos consumidores, o ovo também pode apresentar outros tipos e aplicações, mas de modo geral, elementos como a casca, por exemplo, são desperdiçados em forma de resíduo. Em alguns casos, as cascas de ovos são destinadas à agricultura, a fim de corrigir o pH em solos ácidos (BORON, 2004; FERRO; GUEDES, 2018).

Neste cenário, as indústrias que fabricam produtos a partir de ovos de galinha produzem grandes volumes de resíduos de cascas deste material, resultando em vários desafios ambientais. Os dados apresentados pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) afirmam que a China é o maior produtor de ovos de galinha do mundo, seguida dos EUA, Índia, México e Brasil. O material desperdiçado no pós-consumo acaba se tornando uma das fontes de poluição ao meio ambiente, uma vez que grande parte destes resíduos são descartados no solo, sem qualquer tipo de tratamento, gerando não só o incômodo pelo odor, mas

impactos ambientais que devem ser considerados (WU et al., 2016; WAHEED et al., 2019).

Assim, a casca de ovo é um dos principais resíduos da indústria de alimento. Entretanto, é um material sustentável e de baixo custo, podendo ser uma excelente fonte para obtenção de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (cerca de 94% da constituição). Tal substância pode ser utilizada em aplicações diversas, como na obtenção de um biomaterial cerâmico chamado hidroxiapatita (HA) (DERKUS et al., 2016). A extração de hidroxiapatita através de fontes naturais pode ser considerado um processo ambientalmente amigável, sustentável e de fabricação econômica, uma vez que estes materiais estão disponíveis em grandes quantidades. Isso pode resultar em contribuições positivas para a economia, meio ambiente e para a saúde em geral (MOHD PU'AD et al, 2019). Em tempo, é válido salientar que a casca de ovo é rica em sais mineirais, servindo como base no desenvolvimento de produtos cosméticos, suplementos alimentares, fertilizantes, implantes ósseos e dentários, como agente antitartáreo em cremes dentais e, claro, como base biocerâmica (MURAKAMI et al., 2007).

De acordo com dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2018, a geração de ovos de galinha foi cerca de 3,60 bilhões de dúzias produzidas, um aumento de 8,6% comparando com o ano de 2017 (IBGE, 2019). Assim, a produção em grande escala tem tido grande influência em pesquisas de projetos para uso dos resíduos gerados a partir do consumo dos ovos.

## **2.2 Biomateriais**

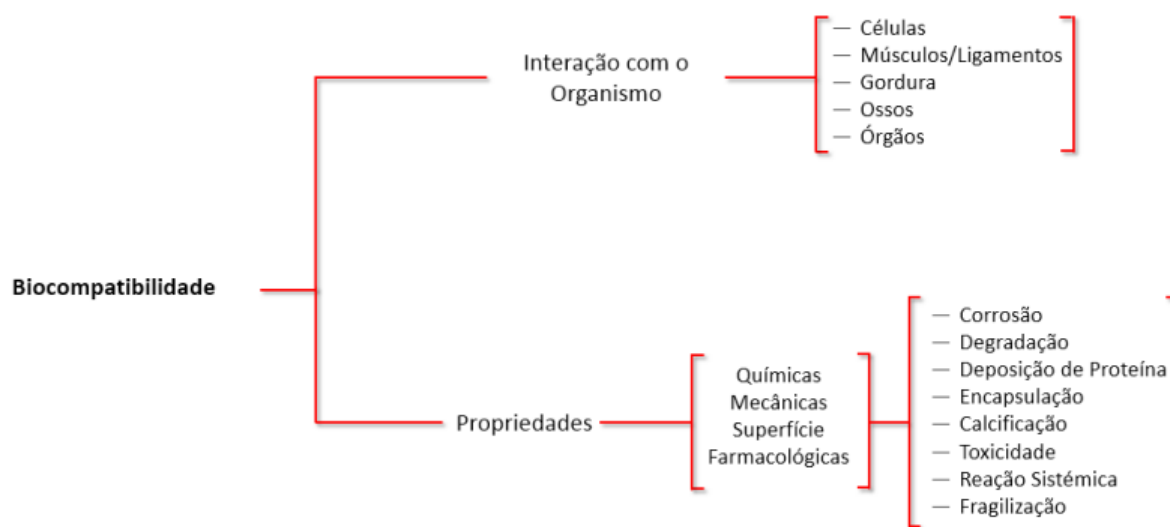
Conforme explicam Park e Lakes (2007), um biomaterial é um material que pode ser utilizado na construção de dispositivos que tenham a função de substituir uma parte ou função de um corpo de maneira segura, confiável, econômica e fisiologicamente estável e aceitável. Bose e Bandyopadhyay (2013) caracterizam um biomaterial como um material sintético ou natural que possa servir em aplicações médicas a fim de executar funções corporais. Sua projeção se dá a



partir das necessidades de aplicações em relação à interface de sistemas biológicos (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Para considerar que um material seja um biomaterial, precisa-se observar uma série de propriedades que devem, além de permitir a interação com o organismo de um modo seguro, garantir que o material exerça sua função dentro de um organismo. Dentro dessas propriedades, portanto, tem-se a biocompatibilidade, que permite a avaliação da aplicabilidade de um biomaterial (PARK; LAKES, 2007). A Figura 1 apresenta um esquema de como a biocompatibilidade verifica a aplicabilidade de um biomaterial.

Figura 1 – Representação do funcionamento da biocompatibilidade



Fonte: Moreno (2015).

Os biomateriais podem ser divididos em alguns grupos, compostos por materiais metálicos, poliméricos, cerâmicos e compósitos. Os materiais cerâmicos podem ser visualizados no emprego da biomedicina. Os polímeros são mais largamente vistos na medicina, com uma origem natural, animal (colágeno e quitina, por exemplo), vegetal (amido, alginatos e outros), natural modificado geneticamente ou sintéticos (PIREZ; BIERHALZ; MORAES, 2015). Cada classe apresenta vantagens, desvantagens e algum tipo de aplicação específica, podendo ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 – Comparação entre as diferentes classes de biomateriais

CLASSE DO BIOMATERIAL	VANTAGENS	DESVANTAGENS	APLICAÇÕES
<b>Polímeros</b>	Resilientes	Baixo Módulo Elástico	Suturas
	Fácil Fabricação	Deformam com o Tempo	Vasos Sanguíneos
	Baixa densidade	Podem sofrer Degradação	Encaixe de Quadril
<b>Cerâmicas</b>	Biocompatibilidade	Difícil Fabricação	Implantes Ósseos
	Resistência ao Desgaste	Frágeis	Implantes Dentários
	Bioatividade	Fracas em Tração	Recobrimentos de Implantes Metálicos
<b>Metais</b>	Fácil Fabricação	Alto Módulo Elástico	Parafusos e Placas
	Resistência ao Desgaste	Alta Densidade	Substituição de Articulações
	Resistência Mecânica	Não Bioabsorvíveis	Implante de Raiz Dentária
<b>Compósito</b>	Resistentes	Dificuldade de Fabricação	Implantes ósseos de polietileno reforçado com fibra
			Resinas de restauração de dentes com inclusões inorgânicas

Fonte: Adaptado de Moreno (2015).

De modo geral, os biomateriais podem ser classificados em diferentes grupos a partir de sua estrutura, seja cristalina, de ligação ou de macroestruturas. Tendo isso por base, trabalhar-se-á nesta pesquisa as biocerâmicas.

### 2.2.1 Biocerâmicas

Biocerâmicas são uma classe de biomateriais que podem ser utilizados como reconstrutores ou agentes de reparação de partes do organismo humano. Servem como materiais de implante, devido à sua capacidade de serem fabricados em diversas formas, além da elevada resistência à compressão, porosidade variável, elevada rigidez e a facilidade de aderirem ao tecido ósseo (MOHD PU'AD et al, 2019). Carter e Norton (2013) dividem as biocerâmicas em três grupos, conforme sua reatividade química com o organismo humano, podendo ser observado no Quadro 2.

Quadro 2 – Classificação de biocerâmicas

CLASSE DA BIOCERÂMICA	REAÇÃO COM O ORGANISMO	EXEMPLOS
Quase inerte	Mecânica	Alumina, Zircônia, Carbono Vítreo
Bioativa	Ligação Interfacial	Hidroxiapatita, Biovidros
Absorvível	Dissolução	Fosfato Tricálcio (TCP), Sulfato de Cálcio

Fonte: Adaptado de Moreno (2015).

As biocerâmicas quase inertes são implantadas no corpo, mas não apresentam uma boa resposta, tendo em vista que o organismo age de maneira protetiva, criando uma camada fibrosa e não aderente em torno do implante. Cerâmicas bioativas formam uma ligação na interface implante/tecido, imitando, assim, o processo de recuperação natural do tecido. Por fim, as biocerâmicas absorvíveis dissolvem no corpo, sendo substituídas pelo tecido que a cerca (CARTER; NORTON, 2013).

Conforme explicam Bose e Bandyopadhyay (2013), os biocerâmicos são usados principalmente em tecidos de dura reparação, regeneração e aumento, especialmente em aplicações de suporte ou como revestimentos sobre implantes metálicos. Os biomateriais cerâmicos mais amplamente utilizados são os fosfatos de cálcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) e os biovidros. Biocerâmicos à base de fosfato de cálcio são amplamente aceitos por apresentarem um alto grau de compatibilidade, estando inserido nesse grupo o beta-fosfato tricálcico, a alumina e, conforme o Quadro 2, os biovidros e a hidroxiapatita (COSTA et al., 2009). Rigo, Gehrke e Carbonari (2007) explicam, ainda, que a hidroxiapatita, além de sua biocompatibilidade, apresenta uma composição química semelhante à fase mineral óssea, exibindo resultados satisfatórios e proporcionando crescimento ósseo ao facilitar a integração do tecido com o implante.

### 2.2.2 Fosfato de Cálcio

Os fosfatos de cálcio são materiais que despertam interesse em diversas áreas do conhecimento, como química, agricultura, bioquímica e bioengenharia. Entretanto, a aplicação mais notável desse tipo de material corresponde à sua

excelente biocompatibilidade, sendo aplicado em tecidos humanos sem que resultem em processos de toxicidade local ou sistêmica de uma reação do organismo do hospedeiro. Além disso, apresentam um papel proeminente na calcificação biológica (KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013). Em sua forma natural, os compostos de fosfato de cálcio podem ser obtidos através de calcinação de diferentes fontes naturais, como ossos humanos (autoenxertos) ou ossos de animais (aloenxertos) (TAMASAN et al., 2013).

As características positivas trazidas pela biocompatibilidade dos fosfatos de cálcio, e apontadas por Moreno (2015), são explicadas por sua composição química, que são, basicamente, íons de cálcio e fosfato, que participam de forma ativa do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a biocerâmica. Existem diversos tipos de fosfatos de cálcio, com composições químicas e propriedades distintas. Um dos fatores que leva à formação destes fosfatos está na relação entre cálcio e fósforo durante a reação (BET; GOISSIS; PLEPIS, 1997; SADAT-SHOJAI et al., 2013). A Tabela 1 representa a relação da variação entre cálcio (Ca) e fósforo (P) e as diferentes estruturas que podem surgir.

Tabela 1 – Classificação de biocerâmicas

<b>Fosfatos de Cálcio</b>	<b>Fórmulas Químicas</b>	<b>Relação Ca/P</b>
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
<b>Hidroxiapatita (HA)</b>	<b><math>\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2</math></b>	<b>1,67</b>
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$\text{CaHPO}_4$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

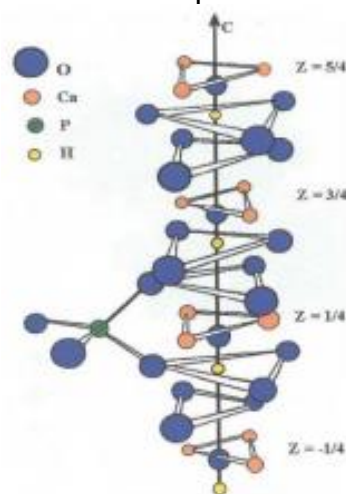
Fonte: Gomes et al., (2012).

Dentre os fosfatos de cálcio existentes, a hidroxiapatita é o mais estável e menos solúvel, atraindo uma considerável atenção científica, especialmente pela semelhança com a fase mineral dos ossos (KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013).

### 2.3 Hidroxiapatita

Por ser uma fase termodinamicamente estável entre os fosfatos, a hidroxiapatita é o fosfato mais comumente encontrado no sistema ósseo e dentário humano, tornando-o o mais estudado como pesquisa científica. Mohd Pu'ad et al. (2019) afirmam que a hidroxiapatita natural é normalmente extraída por meio de fontes biológicas ou resíduos, tais como ossos de mamíferos (por exemplo, bovino, camelos e cavalos), fontes marinhas ou aquáticas (por exemplo, peixes), cascas de ovos, conchas, e de plantas e algas, e também através de fontes minerais (por exemplo, calcário). A estequiometria da hidroxiapatita é basicamente composta de cálcio e fósforo, com proporção molar de Ca/P igual a 1,67, cujo dado pode ser verificado na Tabela 1. Sua fórmula química  $\text{C}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  a caracteriza como um ortofosfato ósseo com propriedade de biocompatibilidade, propriedades osteocondutoras, estabilidade termodinâmica em fluidos corporais, estabilidade a longo prazo e semelhança química geral aos tecidos duros humanos. A Figura 2 representa a estrutura da hidroxiapatita.

Figura 2 – Estrutura hexagonal da hidroxiapatita



Fonte: Mavropoulos (1999).

Entre os diferentes biocerâmicos, a hidroxiapatita induz o crescimento de tecido ósseo e tem uma alta estabilidade termodinâmica em condições fisiológicas, tais como temperatura, pH e em contato com fluidos corporais. No entanto, a hidroxiapatita apresenta baixa resistência mecânica e elevada fragilidade, o que restringe a sua aplicação a áreas onde o stress mecânico inferior é necessário (VASSAL et al., 2019). A hidroxiapatita pode se integrar ao osso sem causar qualquer toxicidade, tanto local quanto sistêmico, em inflamação ou resposta de corpo estranho (MOHD PU'AD et al, 2019).

A hidroxiapatita pode ser sintetizada de diferentes formas, por métodos secos, úmidos e de altas temperaturas, fazendo com que o tamanho das partículas dependa do processo empregado. No entanto, a aplicação de hidroxiapatita cristalina é limitada, por conta da sua fragilidade e baixa resistência (TRAKOOLWANNACHAI; KHEOLAMAI; UMMARTYOTIN, 2019). Segundo Carter e Norton (2013), dentre as propriedades físicas e mecânicas que podem ser avaliadas da hidroxiapatita se encontram a densidade, dureza, resistência à compressão, módulo elástico, resistência à ruptura e outros.

### **2.3.1 Procedimentos para síntese de hidroxiapatita**

Métodos de sintetização de hidroxiapatita com características customizáveis têm sido extensivamente estudados. Embora muitos destes métodos tenham sido desenvolvidos, a preparação de hidroxiapatita com características específicas ainda continua a ser um desafio devido à possibilidade de formação de produtos intermediários tóxicos durante sua síntese. Assim, estudos recentes sobre novos meios de síntese deste material biocerâmico vem sendo desenvolvidos, como podem ser vistos em trabalhos de Zhou e Lee (2011), Lee et al. (2012), Wu et al. (2015), Ramesh et al. (2016) e Vidhya et al. (2019).

A hidroxiapatita pode ser sintetizada quimicamente ou extraída de fontes naturais. Há vários métodos para sintetizar a hidroxiapatita sintética e natural (MOHD PU'AD et al, 2019). Conforme Sadat-Shojai et al. (2013), a hidroxiapatita sintética pode ser fabricada incluindo os métodos secos (sólidos e mecanoquímicos), métodos úmidos (precipitação química, hidrólise, sol-gel,

emulsão, e método hidrotérmico), e processos com alta temperatura (de combustão e pirólise). É possível observar no Quadro 3, um comparativo entre os métodos de obtenção da hidroxiapatita quanto ao custo, cristalinidade, pureza e tamanho da partícula.

Quadro 3 – Comparação dos diferentes métodos para preparação de hidroxiapatita

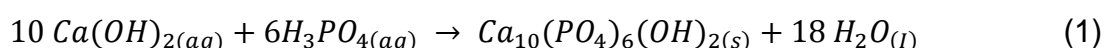
Método		Aspectos de processamento	Características do pó de HÁ		
		Custo	Cristalinidade	Pureza	Tamanho
Seco	Estado sólido	Baixo	Muito alta	Baixa	Micrometro
	Mecanoquímico	Baixo	Muito alta	Baixa	Nanômetro
Úmido	Precipitação Química	Baixo	Baixa	Variável	Nanômetro
	Hidrólise	Alto	Variável	Alta	Variável
	Sol-Gel	Variável	Variável	Variável	Nanômetro
	Hidrotermal	Alto	Muito alto	Alta	Nano ou Micrometro
	Emulsão	Alto	Baixo	Variável	Nanômetro
	Sonoquímico	Baixo	Variável	Alta	Nanômetro
Alta Temperatura	Combustão	Baixo	Variável	Alta	Nanômetro
	Pirólise	Baixo	Alta	Variável	Nano e micro agregado
	Fonte Biogênica	Baixo	Variável	Alta	Variável
	Combinação de Processos	Variável	Alta	Alta	Nanômetro

Fonte: Adaptado de Sadat-Shojai et al., (2013).

Cada síntese de hidroxiapatita resultará em um produto com propriedades físicas diferentes. Os métodos de obtenção mais utilizados são sínteses por via úmida, via seca, sol-gel e hidrotermal (TOMASELLI, 2014). Conforme Sadat-Shojai et al. (2013), um estudo estatístico indica que cerca de 25% do total de 650 artigos catalogados no período de 1999-2011 estão unicamente ligados ao método mais convencional que é a precipitação química. Depois da precipitação química, os métodos sólidos e o processo hidrotérmico são os mais conhecidos de preparação de hidroxiapatita, representando em proporção 16 e 14%, respectivamente.

### 2.3.1.1 Síntese via precipitação

A sintetização de hidroxiapatita via precipitação é uma das mais simples na obtenção de partículas nanométricas. Ela se baseia no fato da hidroxiapatita, em temperatura ambiente e pH entre 9,5 e 12, ser um fosfato de cálcio mais estável. O procedimento por precipitação é um método que utiliza equipamentos e reagentes de baixo custo, obtendo-se como produto final água e hidroxiapatita. Essa obtenção se dá com a utilização de ácido fosfórico e hidróxido de cálcio (SADAT-SHOJAI et al., 2013), ocorrendo a reação apresentada pela Reação 1.

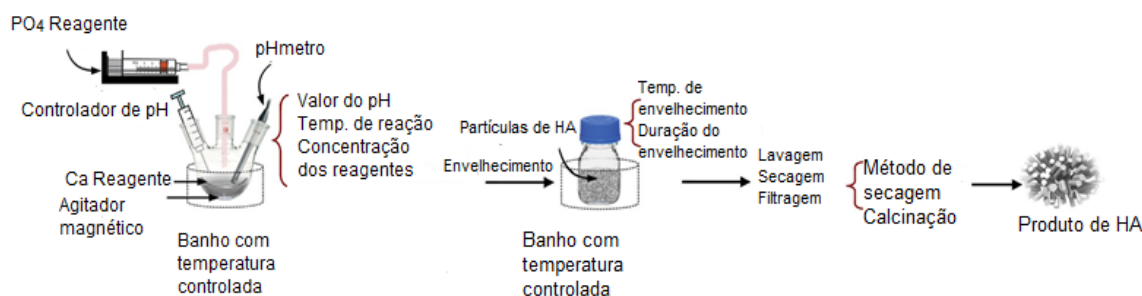


A forma de maior solubilidade da hidroxiapatita é o estado amorfo, obtido por meio de uma lenta adição dos íons fosfato em uma solução de íons de cálcio, mantendo a homogeneidade, pois a não homogeneidade interfere em sua biocompatibilidade. O produto obtido é envelhecido por cerca de vinte e quatro horas, passando por várias etapas de dissolução e recristalização até chegar no material com menor solubilidade (VOLKMER, 2006; TOMASELLI, 2014).

O processo de precipitação é realizado com um rígido controle de pH, conforme citado anteriormente, e em temperaturas entre 25 e 100 °C. Para produzir as partículas de HA, a precipitação química pode ser realizada usando vários reagentes contendo cálcio e fosfato como fonte de  $\text{Ca}^{2+}$  e o ácido fosfórico como fonte de  $\text{PO}_4^{-3}$  (TOMASELLI, 2014; SADAT-SHOJAI et al, 2013). A Figura 3 mostra um diagrama esquemático das etapas envolvidas na precipitação química de hidroxiapatita, juntamente com os parâmetros propostos para atingir as características do pó.



Figura 3 – Preparação de hidroxiapatita por precipitação química convencional



Fonte: Adaptado de Sadat-Shojai et al. (2013).

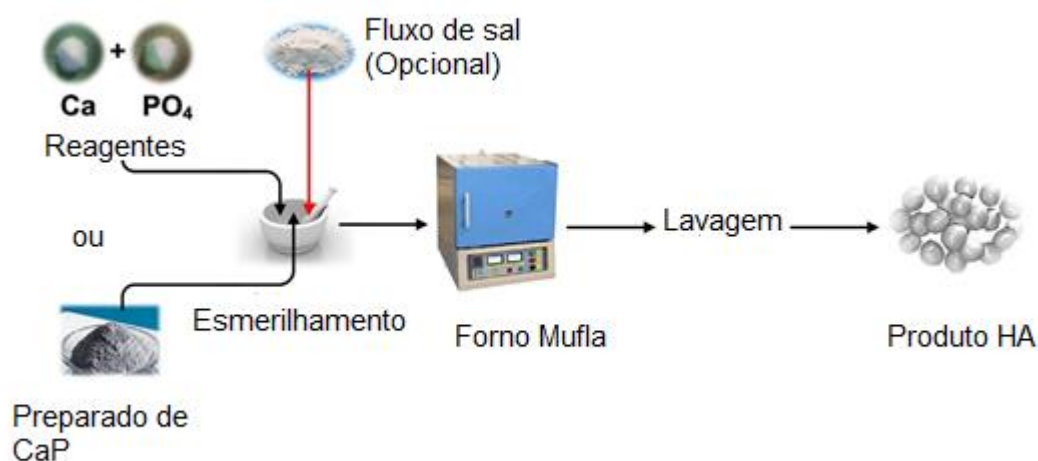
Segundo Sadat-Shojai et al. (2013), um procedimento típico envolve a adição, gota a gota, de um reagente a outro sob agitação contínua e suave, enquanto a proporção molar de elementos (Ca/P) é mantida estequiometricamente, de acordo com a proporção em hidroxiapatita (1,67). Como último passo, a suspensão resultante pode ser envelhecida sob pressão atmosférica ou imediatamente lavada, filtrada, seca e triturada em pó.

Volkmer (2006) sugere que a casca de ovo da galinha pode ser usada como uma alternativa para se obter o carbonato de cálcio, pois este se decompõe em dióxido de carbono e óxido de cálcio em temperaturas maiores que  $400^{\circ}C$ . É realizada a diluição em água do óxido de cálcio proveniente da calcinação da casca do ovo, sendo a hidroxiapatita obtida a partir da reação dessa solução com o ácido fosfórico. A junção de um reagente ao outro é realizada com um controle de pH e sob uma leve agitação, visto que um pH abaixo de 9 pode acarretar na obtenção de uma hidroxiapatita com deficiência de íons de cálcio. Um dos problemas desse método é o controle de temperatura e pH, sendo necessário um rígido acompanhamento desses fatores, pois ambos influenciam no aparecimento de outros fosfatos de cálcio que, na obtenção da hidroxiapatita, podem ser considerados como impurezas (COSTA et al., 2009; SADAT-SHOJAI et al., 2013).

### 2.3.1.2 Síntese via seca

A reação em estado sólido para obtenção da hidroxiapatita é um procedimento relativamente simples, usada na produção em massa de pó deste material. No procedimento típico os precursores são primeiramente moídos e depois calcinados a uma temperatura bastante elevada (por exemplo, 1000 °C). Os precursores podem ser químicos, contendo cálcio e fosfato de vários tipos, ou simplesmente um sal de cálcio e fosfato previamente preparado. A alta temperatura de calcinação leva ao desenvolvimento de uma estrutura bem cristalina (SADAT-SHOJAI et al., 2013). A Figura 4 mostra um fluxograma do processo de produção de HA usando o método por via seca.

Figura 4 – Preparação de hidroxiapatita por método em estado sólido



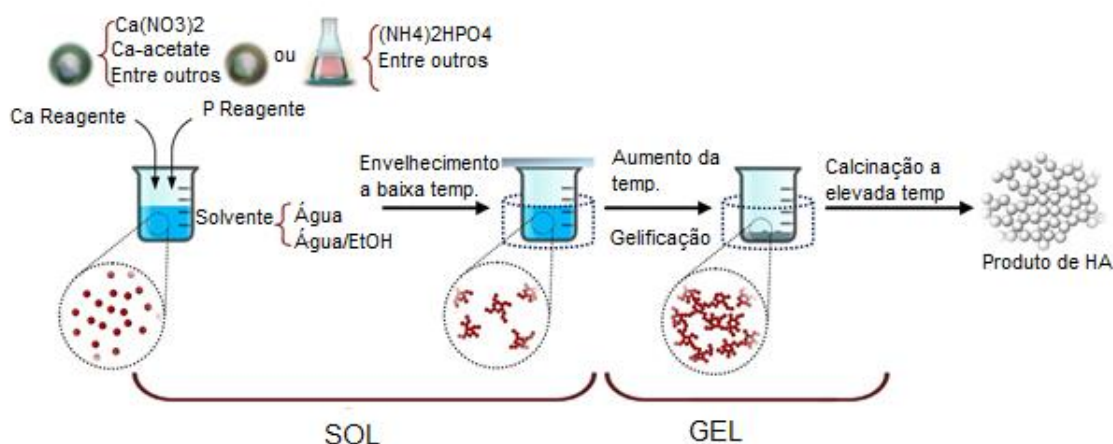
Fonte: Adaptado de Sadat-Shojai et al. (2013).

Na síntese por via seca, é necessário que haja controle do processo para que a homogeneização seja garantida e não seja formado nenhum subproduto. Um dos métodos usados é por meio da reação no estado sólido entre fosfato de cálcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) e o carbonato de cálcio, em temperaturas de aproximadamente 1200°C. Nestas condições ocorre a criação de um pó fino e o produto apresenta uma ótima cristalinidade (TOMASELLI, 2014).

### 2.3.1.3 Método sol-gel

O método sol-gel foi um dos primeiros métodos propostos para a síntese úmida de hidroxiapatita. Porém, a formação das partículas de sol-gel é um procedimento muito complexo, que envolve nucleação, crescimento, agregação e aglomeração (ZHOU; LEE, 2011). Conforme Tomaselli (2014), o ácido fosfórico e o nitrato de cálcio são os reagentes mais empregados neste método, devido a serem solúveis em água e álcoois, e o metanol é um dos solventes mais adotado nessa síntese. O método é realizado em baixas temperaturas e dispensa o alto-vácuo, obtendo-se como resultado um pó fino. As etapas do processo sol-gel, de forma simplificada, se dão pela formação do sol através da hidrólise do alcóxido, seguido da condensação dos compostos onde ocorre a transformação do sol em gel, e por fim é realizada a secagem do gel. A Figura 5 apresenta as etapas de preparação de hidroxiapatita pelo método sol-gel.

Figura 5 – Preparação de hidroxiapatita por meio do processo sol-gel



Fonte: Adaptado de Sadat-Shojai et al. (2013).

Na fase de solução, a reação entre os precursores de cálcio e fósforo ocorre lentamente, sendo necessário um tempo de envelhecimento de vinte e quatro horas e uma temperatura de  $80^\circ\text{C}$ , para que a hidroxiapatita obtida apresente ótimas características. Na segunda etapa, no gel, ocorre um aumento da temperatura, na etapa de calcinação, na qual é utilizada uma temperatura de 300 a  $700^\circ\text{C}$ . Além disso, a etapa de tratamento térmico é considerada crítica na geração

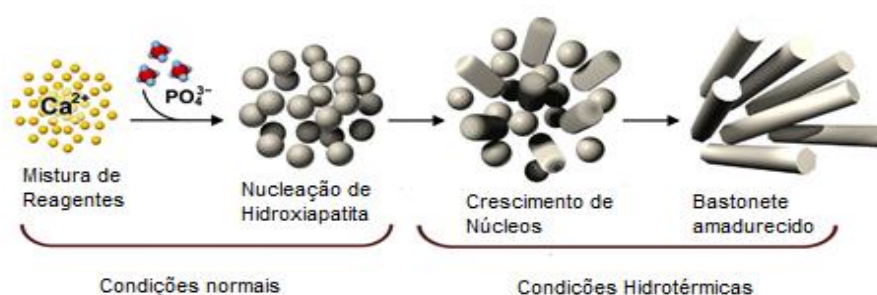
de hidroxiapatita pura e na expulsão de partes orgânicas residuais, produtos gasosos e moléculas de água do gel poroso (ZHOU; LEE, 2011).

#### 2.3.1.4 Método hidrotermal

O processo hidrotérmico é um dos métodos mais comuns para a preparação de hidroxiapatita, geralmente identificado pela reação de produtos químicos em solução aquosa com temperatura e pressão elevadas. A síntese hidrotérmica pode ser simplesmente considerada como uma precipitação química em que a etapa do envelhecimento é conduzida a uma temperatura tipicamente alta, acima do ponto de ebulição da água e realizada dentro de uma autoclave ou vaso de pressão (SADAT-SHOJAI et al., 2013).

Zhang et al. (2011) sugerem que a formação de cristais em forma de bastonetes por meio de cristalização hidrotérmica compreende dois estágios principais, incluindo a etapa de nucleação, na qual pequenos núcleos cristalinos em um meio supersaturado são formados (reação de íons) e a etapa de crescimento, em que os núcleos continuamente crescem na forma e tamanho finais (tratamento hidrotérmico). Ainda, conforme os autores, no processo hidrotermal a temperatura e pH são os fatores mais significativos que afetam as características estruturais e morfológicas das nanopartículas de hidroxiapatita, sendo que a proporção das nanopartículas diminui acentuadamente com o aumento do valor do pH. A Figura 6 ilustra esquematicamente esses dois estágios de formação de hidroxiapatita em condições hidrotérmicas.

Figura 6 – Processo em duas etapas de preparação de nanopartículas de hidroxiapatita tipo haste em condições hidrotérmicas



Fonte: Adaptado de Sadat-Shojai et al. (2013).

Segundo Sadat-Shojai et al. (2013), o método hidrotérmico tem sido geralmente explorado para preparar hidroxiapatita nanométrica. O processo hidrotérmico é classificado como o terceiro método mais popular para obtenção de hidroxiapatita, depois dos métodos convencionais de precipitação e combinação. De acordo com os autores, as nanopartículas de hidroxiapatita obtidas por meio das condições hidrotérmicas são altamente cristalinas. Além disso, a pureza de fase e a relação Ca/P do precipitado de hidroxiapatita melhoram significativamente ao aumentar a temperatura hidrotermal. No entanto, temperatura e pressão elevadas exigem equipamentos refinados, tornando o processo hidrotérmico mais caro do que alguns outros métodos.

## **2.4 Análises para caracterização de hidroxiapatita**

### **2.4.1 Análise termogravimétrica (TGA)**

As técnicas que verificam a variação de massa de uma amostra quando submetida a um aumento de temperatura são chamadas de análises térmicas. Dentre estas técnicas, a mais utilizada é a termogravimétrica (TGA), que acompanha a variação da massa enquanto a amostra é aquecida com um controle de temperatura. A técnica termogravimétrica se trata de uma técnica quantitativa, e assim, muitas vezes é recomendado que os intermediários de cada etapa, bem como os resíduos finais da degradação, passem por outras técnicas complementares para sua caracterização. Para a decomposição da casca de ovo geralmente sugere-se a queima da matéria orgânica em uma mufla, a uma temperatura em torno de 800°C, em torno de 3 horas (PEREIRA et al., 2009).

#### **2.4.2 Análise por Microscopia de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS)**

Segundo Dedavid, Gomes e Machado (2007), a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma tecnologia amplamente utilizada na verificação da topografia de uma superfície cristalina, apresentando alta precisão e também usada em processos de precipitação. A análise consiste na aplicação de um feixe de elétrons na superfície do material, podendo a amostra ser metalizada com ouro para aumentar a superfície de contato. Por meio dos resultados obtidos é possível ter detalhes de toda a superfície, formando assim as micrografias.

A análise de microscopia eletrônica de varredura apresenta uma alta resolução na observação de amostras, devido a isso é muito utilizada na análise de características micro estruturais de objetos sólidos. O MEV é um instrumento que possui a capacidade de fornecer de forma rápida informações da estrutura morfológica da amostra. Esse tipo de análise se dá através de feixes de elétrons no lugar dos fótons utilizados em um microscópio óptico convencional. Uma das características é a aparência tridimensional das imagens obtidas das amostras (BARBOSA, 2012).

Dentre as ferramentas encontradas no MEV, uma das mais importantes e utilizadas é o Espectrômetro de raios-X por Dispersão de Energia (EDS), que permite a identificação da composição das amostras, embora qualitativamente e em pontos específicos na imagem (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

O *Energy Dispersive System* (EDS) é um sistema que possibilita determinar a composição qualitativa e semi quantitativa das amostras, a partir da emissão de raio X característicos. Nesse sistema o limite de detecção é de ordem de 1%, mas pode variar conforme as especificações usadas na análise, como por exemplo o tempo de contagem. Uma das grandes vantagens de se utilizar MEV/EDS é a rapidez e facilidade na preparação das amostras, dependendo dos objetivos da pesquisa (DEDAVID; GOMES; MACHADO 2007).

## 2.5 Aplicações da hidroxiapatita e estudos de caso

Recentemente, diversos estudos como os de Zhou e Lee (2011), Lee et al. (2012), Wu et al. (2015), Ramesh et al. (2016) e Vidhya et al. (2019) relatam sobre a obtenção de hidroxiapatita a partir de fontes naturais para seu uso como um material biocerâmico, principalmente em áreas médicas. A hidroxiapatita vem sendo usada para uma variedade de aplicações biomédicas, incluindo materiais de engenharia para tecidos ósseos. Este biomaterial possui semelhança química com os componentes inorgânicos da matriz óssea, possuindo forte afinidade para acolher tecidos duros. A ligação química com o tecido hospedeiro oferece uma maior vantagem em aplicações clínicas comparada com a maioria dos outros substitutos de ossos, tais como enxertos ou implantes metálicos. As principais vantagens da hidroxiapatita sintética são a sua biocompatibilidade, lenta biodegradabilidade e boas capacidades osteocondutoras e osteoindutoras (ZHOU; LEE, 2011).

Conforme Vidhya et al. (2019), o mercado mundial de biomateriais vem expandindo significativamente nos últimos anos, com uma crescente demanda especialmente para materiais de aplicação dentária. Os materiais dentários que são substitutos ósseos visam o desenvolvimento do osso natural, entre eles enxertos ósseos dentários, os quais são utilizados clinicamente em diferentes formas, tais como pós, pastas, cimento, entre outros, dependendo da natureza da reparação. Segundo o autor, biocompatibilidade, biofuncionalidade, disponibilidade e multifuncionalidade são alguns dos principais critérios para a seleção desse tipo de material. Os aspectos econômicos que rodeiam esta questão social e de saúde também são de extrema importância, assim qualquer ação destinada à redução de custos precisa ser considerada.

Segundo estudo de Zhou e Lee (2011), a hidroxiapatita sintetizada exibe uma excelente biocompatibilidade com tecidos moles, tais como pele e músculos. Esta capacidade faz da HA uma candidata ideal para implantes ortopédicos e odontológicos ou componentes de implantes. Os usos mais comuns incluem a reparação óssea, bem como o revestimento de implantes ou como *fillers* em ossos ou dentes. No entanto, a baixa resistência mecânica de cerâmicas normais restringe o seu uso principalmente para aplicações de pouca carga. Ainda

conforme o autor, recentes avanços nas áreas de nanociência e nanotecnologia reacendeu o interesse na formação de nano hidroxiapatita e o estudo de suas propriedades em nanoescala.

Em geral, a hidroxiapatita é empregada para a reparação de defeitos e aumento do osso, em virtude da sua biocompatibilidade superior, produtividade osteocondutora e bioatividade (capacidade vital do material para induzir a criação de uma ligação interfacial entre o implante e os tecidos vivos). Dada esta vantagem, materiais à base de hidroxiapatita também são usados para a remoção de metais pesados no tratamento de águas residuais e do solo, entre outros (WU et al., 2015).

Lee et al. (2012) realizaram um estudo comparativo entre hidroxiapatita a partir de cascas de ovo e de hidroxiapatita sintética para reparação óssea. A partir dos resultados observou-se que ambas apresentaram uma baixa resposta inflamatória, e a hidroxiapatita obtida a partir da casca de ovo mostrou uma regeneração óssea mais significativa que a sintética, exibindo também uma maior cristalinidade. Assim, através destes resultados obtidos, a HA foi considerado um material de enxerto ósseo econômico.

Conforme trabalho de Wu et al. (2015), a hidroxiapatita foi obtida com êxito através da síntese por precipitação química, sendo possível, através de análises como difração por raio X, FTIR e MEV, observar a formação das fases de hidroxiapatita, a qual tem início quando a amostra é moída e calcinada a 900°C por uma hora, subsequentemente, a fase pura altamente cristalina de hidroxiapatita (97,4%) foi formada na sinterização a 1200°C, no período de uma hora. Diante do estudo o autor constatou que a casca do ovo é uma ótima fonte de cálcio, podendo ser empregada na forma de hidroxiapatita como uma cerâmica barata para aplicações biomédicas, e sua utilização tem como resultado a diminuição de resíduos no meio ambiente.

Conforme trabalho de Ramesh et al. (2016), a hidroxiapatita nanoestruturada foi produzida com sucesso a partir de cascas de ovo como uma fonte direta de cálcio utilizando um método de síntese no estado sólido. A fase pura altamente cristalina em pó de hidroxiapatita foi obtida após o pré-aquecimento no tratamento da casca de ovo e calcinado a 800°C. O resultado morfológico do pó de HA exibiu excelentes características de sinterização e foi capaz de manter a estabilidade de fase até 1250°C. O tratamento térmico dado às amostras acima de 1250°C



resultaram na decomposição de fase da hidroxiapatita. Além disso, a hidroxiapatita derivado de casca de ovo exibiu uma ótima osteocondução ao ser comparada com hidroxiapatita sintetizado por meio de outras fontes.

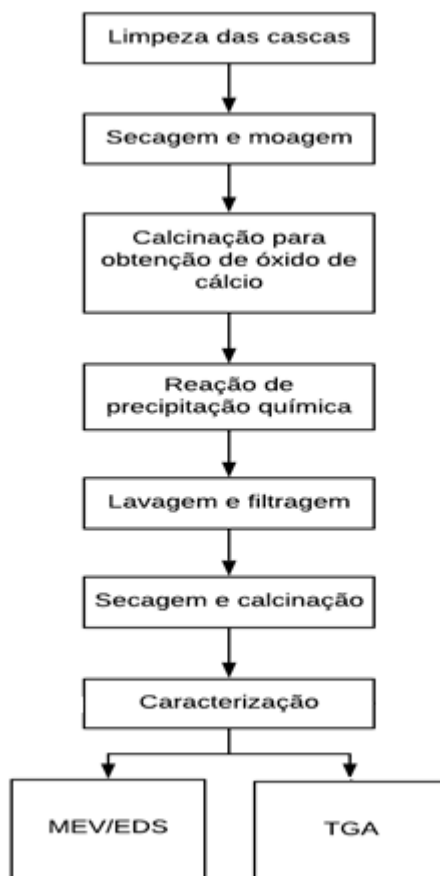
### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Materiais**

As cascas de ovos de galinha usadas foram provenientes do uso doméstico. Os reagentes utilizados foram o ácido fosfórico 85% P.A. ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), fornecido pela Vetec, e hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) adquirido da Synth. Obteve-se duas amostras da síntese de precipitação química.

O trabalho foi realizado nos laboratórios de química da Universidade do Vale do Taquari – Univates, com apoio do Parque Científico e Tecnológico Univates (Tecnovates), para a realização dos ensaios de caracterização da hidroxiapatita. A fim de cumprir com os objetivos da pesquisa, a metodologia retrata como foram realizadas as atividades propostas. O fluxograma apresentado na Figura 7 mostra, de maneira simplificada, as etapas que foram realizadas durante o trabalho.

Figura 7 – Fluxograma das etapas para a síntese de hidroxiapatita a partir de cascas de ovo



Fonte: Da Autora (2019).

## 3.2 Preparação do material e síntese da hidroxiapatita

### 3.2.1 Limpeza, secagem e moagem das cascas de ovo

As cascas de ovos, obtidas do uso doméstico, foram lavadas com água destilada para que qualquer resíduo que possa estar presente seja eliminado. Após a limpeza, secou-se as cascas em estufa (ETHIK TECHNOLOGY, 404-3D) a 100 °C durante 24 horas, a fim de eliminar contaminantes e odores. Em seguida, as cascas secas foram moídas em um moinho (TECNAL, Mod. TE-631) a uma velocidade de 27000 rpm durante 30 segundos e padronizadas em uma peneira

classificadora (BERTEL, Mod. 220) durante 5 min com a intenção de separar o material com granulometria inferior a 100 Mesh Tyler (SOUZA et al., 2017).

### 3.2.2 Calcinação

O pó obtido na etapa de moagem foi calcinado em forno mufla (MARCONI, Mod. MA-385/2), a uma temperatura de 800°C por três horas, com o objetivo de transformar o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) em óxido de cálcio (CaO) (SOUZA et al., 2017), conforme mostrado na Reação 2.



### 3.2.3 Reação de precipitação química

A síntese da hidroxiapatita deu-se pelo método de precipitação química, o qual ocorre através da reação de uma suspensão de hidróxido de cálcio e ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Após a etapa de calcinação, em uma balança analítica (SHIMADZU, AUX220), pesou-se 5,6 g do pó obtido da calcinação e diluiu-se em 150 mL de água destilada para que fosse formada a suspensão de hidróxido de cálcio, em temperatura ambiente (SOUZA et al., 2017), conforme a Reação 3.



Em seguida, para a obtenção da hidroxiapatita, é necessário que ocorra a reação entre o ácido fosfórico comercial (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e o hidróxido de cálcio, conforme demonstrado na Reação 1. Para que a reação ocorra corretamente, faz-se necessária a adição controlada dos reagentes na solução. Foi adicionado à suspensão de 150 mL de hidróxido de cálcio, 30 mL de ácido fosfórico comercial, para que ocorresse a reação. A adição do ácido fosfórico foi realizada com o auxílio de uma bureta com controle manual da velocidade de adição de aproximadamente 1,0 mL/min, sendo necessário um aquecimento prévio da suspensão de aproximadamente 80°C. Com o auxílio de um agitador magnético (VELP

Scientifica, Mod. 630W) manteve-se a suspensão em constante agitação, além de ser necessário o uso de um pHmetro (Digimed, Mod. DM-22) para o controle do pH da solução, mantendo-o em torno de 10. Para correção do pH foi utilizado hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (SOUZA et al., 2017).

Visto que tempos de envelhecimento maiores e uma lenta adição de ácido fosfórico favorecem um produto de alta cristalinidade, foram avaliadas duas amostras em condições de envelhecimento diferentes: uma amostra mantida durante 1 hora (HIDROXI-1) e outra mantida durante 24 horas (HIDROXI-24) perante agitação magnética, sob uma temperatura de aproximadamente 80°C. Assim, o líquido evapora, restando apenas uma pasta viscosa, que foi então lavada três vezes a fim de eliminar qualquer possível contaminante, e então filtrada de forma convencional com o auxílio de um funil de separação simples e um papel filtro (UMMARTYOTIN; TANGNORAWICH, 2015).

#### **3.2.4 Secagem e Calcinação**

Após ser filtrada, a pasta viscosa obtida na etapa anterior foi levada a uma estufa por um período de 24 horas, à uma temperatura de aproximadamente 110°C. O produto seco obtido foi moído, sendo classificado em uma peneira de malha 100 Mesh, para em seguida ser calcinado por um período de duas horas por 900°C, visando um melhor resultado nas características físicas da amostra, como a cristalização, analisada por DRX (SOUZA et al., 2017).

### **3.3 Caracterização da hidroxiapatita**

#### **3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia por dispersão de energia (EDS)**

Para analisar a morfologia e as microestruturas das hidroxiapatitas obtidas usou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando o microscópio CARLS ZEISS LS-10, a uma voltagem de aceleração de 10 kV. As

amostras foram colocadas sobre suportes metálicos (stubs) em fita de carbono e metalizadas com ouro para a análise. O ensaio realizou-se no Tecnovates. Além disso, com o objetivo de observar os componentes químicos da amostra, usou-se a análise de espectroscopia dispersiva (EDS). Tal análise foi realizada em duas amostras obtidas da síntese de precipitação química bem como na casca de ovo pura (limpa, seca e moída) e calcinada.

### **3.3.2 Análise Termogravimétrica (TGA)**

O comportamento de degradação térmica das partículas de casca de ovo e das amostras de hidroxiapatita obtidas, foi determinada por análise termogravimétrica. Essa análise foi realizada em um analisador termogravimétrico TGA Shimadzu-50 sob uma atmosfera de  $N_2$  usando 10 mg da amostra. Conforme trabalho de Ummartyotin e Tangnorawich (2015), a taxa de aquecimento utilizada foi de 10 °C/min com as temperaturas variando entre 25 a 900°C. As análises realizaram-se no Tecnovates.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de determinar o comportamento de degradação térmica das amostras de casca de ovo pura, calcinada e das hidroxiapatitas obtidas, utilizou-se a análise termogravimétrica (TGA). É possível observar o comportamento das amostras nas curvas de TGA mostradas nas Figuras 8 e 9.

Figura 8 – Análise termogravimétrica da casca de ovo de galinha

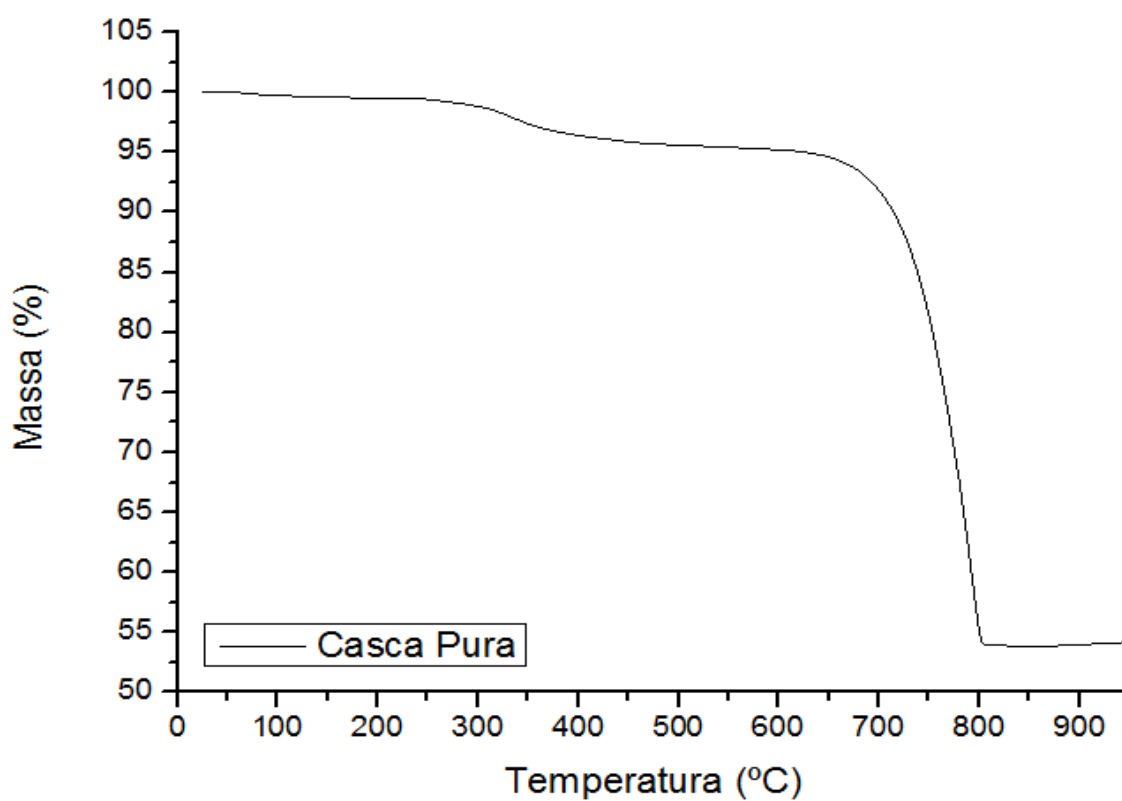
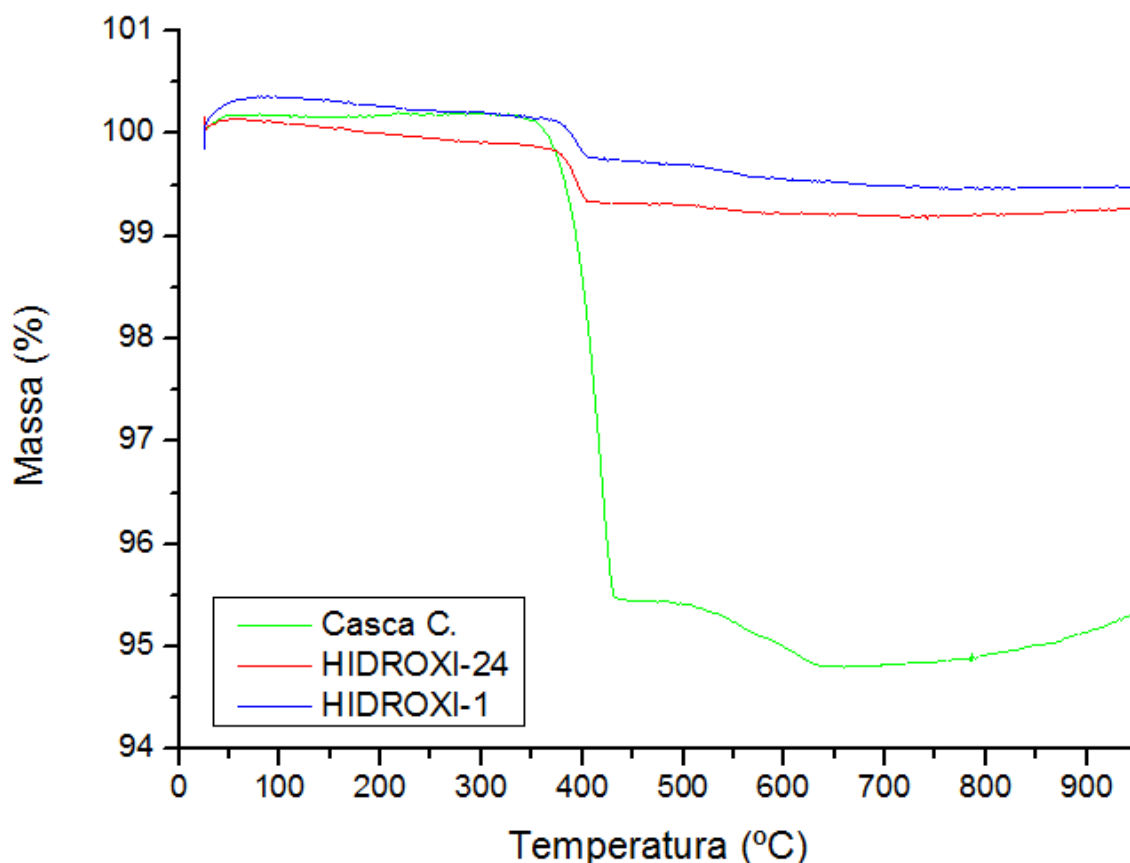


Figura 9 – Análise termogravimétrica das amostras de hidroxiapatitas e da casca calcinada



Fonte: Da autora, 2020.

A partir do resultado obtido na análise termogravimétrica da casca de ovo, é possível verificar que a perda de massa ocorre em três etapas. A primeira etapa ocorre entre a temperatura de 25°C a 200°C, representando a perda de água adsorvida nas partículas do pó residual, resultando em uma perda de massa de aproximadamente 1%. A segunda etapa acontece entre 250°C a 550°C, correspondendo a decomposição da matéria orgânica presente na casca de ovo, representando uma perda de massa em torno de 3,5%. Já a terceira e última etapa ocorre entre as temperaturas de 600°C e 800°C, etapa em que a calcinação da casca de ovo ocorre, logo, sucede-se a transformação do carbonato de cálcio em óxido de cálcio, sendo a perda de massa desta etapa de 41%. A perda de massa obtida nessa terceira etapa é semelhante ao valor encontrado por Ummartyotin e Tangnorawich (2015), o qual utilizou resíduos de casca de ovo de galinha para



síntese de hidroxiapatita pelo método de precipitação química, calcinando as cascas em temperaturas de 700°C, 800°C, 900°C e 1000°C, em que através do TGA verificou que a calcinação a 800°C é uma temperatura ideal para obtenção do óxido de cálcio, onde a perda de massa da casca de ovo nesta etapa foi de 40%. A perda de massa encontrada totalizou 45,5%, estando de acordo com os resultados obtidos no estudo sobre a caracterização de resíduos de casca de ovo visando o seu aproveitamento em revestimento cerâmico poroso de Freire e Holanda (2006), o qual em 3 etapas de perda de massa obtiveram um total de 46,8%, mostrando-se bem próximo ao encontrado no presente trabalho, podendo verificar que a temperatura de 800°C para a calcinação e obtenção do óxido de cálcio é correta.

Na amostra de hidroxiapatita obtida com um tempo de envelhecimento de 1 h (HIDROXI-1), mostrada na Figura 9, ocorre um aumento de massa entre 25°C a aproximadamente 150°C, este efeito pode estar relacionado a pequenos rearranjos estruturais devido ao efeito endotérmico, conforme Santos et al. (2005). A primeira etapa de perda de massa ocorre a partir de 200°C até 500°C, correspondendo à vaporização da água de cristalização da hidroxiapatita, ou até mesmo a água adsorvida na superfície, correspondendo a cerca de 0,4% de perda de massa, e a partir de 500°C observa-se pequenas perdas mas sem alteração significativa da massa.

A amostra de hidroxiapatita obtida com um tempo de envelhecimento de 24 h (HIDROXI-24) apresenta uma curva termogravimétrica próxima ao da hidroxiapatita de 1 h. O primeiro evento se dá com um aumento de massa entre 25°C a aproximadamente 75°C. Entre 75°C e 425°C ocorre a primeira perda de massa, sendo em torno de 0,7%, essa perda deve-se a saída da água adsorvida pela superfície da amostra e a partir de 425°C ocorrem perdas gradativas mas sem alteração significativa da massa.

Tanto a amostra de HIDROXI-1 e HIDROXI-24 obtiveram resultados satisfatórios, visto que como a hidroxiapatita é um material biocerâmico não tende a perder muita massa na temperatura analisada, tendo como perda total 0,5% e 0,8%, respectivamente. As pesquisas realizadas por Almeida (2018), sobre síntese e caracterização de *scaffolds* de hidroxiapatita para aplicações na regeneração óssea, sendo utilizado uma hidroxiapatita comercial de 70% HA e 30% de fosfato

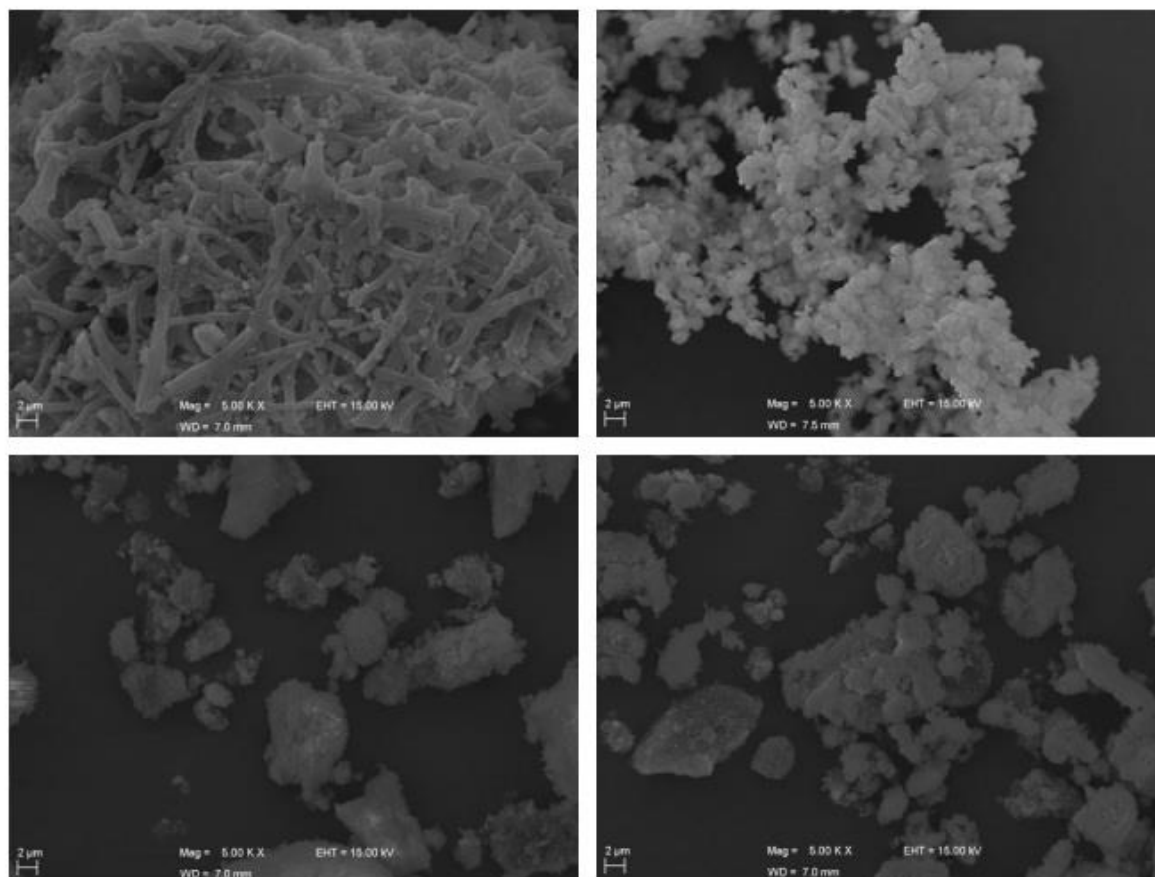
de cálcio amorfo tratada a 700°C a fim de proporcionar uma melhor cristalinidade, obteve uma perda de massa de 1,25%. Já o estudo de Santos et al. (2005), o qual sintetizaram a hidroxiapatita pelo método sol-gel, utilizando ácido fosfórico e nitrato de cálcio na obtenção da mesma, mostraram curvas de TGA bem próximas com as obtidas no presente trabalho, porém Santos et al. (2005) apresentaram uma maior perda, provavelmente relacionado ao fato da utilização do método sol-gel para obtenção da hidroxiapatita. Ambos os trabalhos encontraram bons resultados na análise termogravimétrica da hidroxiapatita, mesmo sintetizando-a de diferentes maneiras, visto que um material cerâmico não tende a perder muita massa nas temperaturas utilizadas para análise.

A casca de ovo calcinada (Casca C) tem o primeiro evento de perda de massa significativa entre as temperaturas de 300°C a 450°C, sendo em torno de 4,5%. A perda de massa nessa faixa pode ser atribuída à decomposição de hidróxido de cálcio, uma indicação de que o CaO reagiu com a umidade atmosférica para formar o  $\text{Ca(OH)}_2$ , o que indica a possibilidade do pó não ser totalmente óxido de cálcio quando utilizado na reação de precipitação química pois reagindo com a umidade ocorreu a formação de outro composto, conforme Castro et al. (2019). O segundo evento acontece entre as temperaturas de 450°C a 660°C, considerando uma perda de massa de aproximadamente 0,7%, atribuída à decomposição restante de  $\text{CaCO}_3$  e perda de impurezas inorgânicas, logo, a casca de ovo calcinada a 800°C apresentou uma perda de massa total de 5,2%. Percentuais de perda de massa e curvas termogravimétricas semelhantes foram encontradas em trabalho de Castro et al. (2019), o qual utilizaram catalisadores de óxido de cálcio a partir de cascas de ovos na produção de biodiesel a partir de óleo de algodão, avaliando diferentes temperaturas de calcinação, sendo observado que a calcinação a 800°C apresentou uma perda de massa de 4,76%. Em estudo de Sharma et al. (2010), que também utilizaram catalisadores a partir de cascas de ovos para síntese de biodiesel usando óleo de *Pongamia pinnata*, calcinando as cascas a uma temperatura de 900°C por 2 horas, também obtiveram a partir da análise termogravimétrica curva e perda de massa semelhantes.

Com o intuito de analisar a morfologia e as microestruturas das hidroxiapatitas obtidas usou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura

(MEV), como pode ser observada nas micrografias apresentadas na Figura 10, um comparativo com a literatura pode ser observado na Figura 11.

Figura 10 – Micrografias da casca do ovo e hidroxiapatitas A) Pó da casca de ovo; B) Casca C.; C) HIDROXI-1; D) HIDROXI-24;



Fonte: Da autora, 2020.

A Figura 10-A mostra a micrografia da amostra do pó da casca de ovo, sendo possível observar um material na forma de fibras emaranhadas interligadas entre si. Morfologia parecida a esta foi observada no estudo de recuperação de fosfato de soluções aquosas usando casca de ovo calcinada como um adsorvente ecológico de Santos et al. (2019). Ummartyotin e Tangnorawich (2015) obtiveram morfologia semelhante, verificando que a presença de fibras são propriedades típicas da casca do ovo, sendo um material de alta porosidade. Castro et al. (2019) também obtiveram morfologia semelhante.

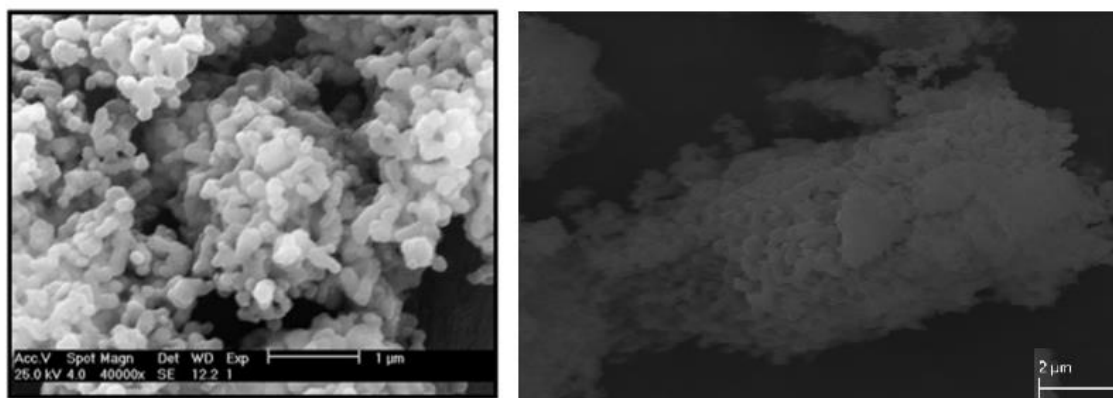
Já na amostra da casca de ovo calcinada a 800°C, mostrado na micrografia da Figura 10-B, é possível verificar na sua morfologia pequenas partículas aglomeradas as quais começam a tornarem-se esféricas. Segundo Castro et al. (2019), o qual obteve morfologia semelhante, a calcinação da casca de ovo apresenta uma distribuição das partículas mais homogênea em que poros maiores são encontrados. Além disso, as imagens de MEV para casca calcinada foram observadas de forma semelhante também no estudo de síntese de hidroxiapatita de fontes naturais de Mohd Pu'ad et al. (2019), o qual realizou a calcinação da casca de ovo a uma temperatura de 900°C e método de precipitação química para obtenção de hidroxiapatita, não apresentando como fonte de cálcio somente a casca de ovo, mas sim outras opções de fontes naturais.

As Figura 10-C e 10-D mostram as micrografias das amostras de HIDROXI-1 e HIDROXI-24, respectivamente. Ambas apresentam ampla distribuição de tamanho, suas partículas são aproximadamente esféricas. Esta característica é típica de materiais submetidos à tratamentos térmicos em temperaturas elevadas. Morfologia semelhante foi observada por Rigo, Gehrke e Carbonari (2007) para HA, quando realizado um estudo sobre a síntese e caracterização da hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação, bem como o estudo da análise da aplicação dental de MTA (Material restaurador agregado de trióxido mineral) incorporado com hidroxiapatita de Barros et al. (2012). Ambas amostras apresentam uma morfologia fina, composta por esferas aglomeradas.

Azevedo, Strecker e Gorgulho (2015) realizaram um estudo sobre o efeito da temperatura em pós de HA obtidas pelo método de precipitação utilizando íons precursores, e através da microscopia eletrônica de varredura observaram que a hidroxiapatita não calcinada exibiu aglomerados grandes, enquanto que a hidroxiapatita calcinada a 900°C por 2 horas, como no presente trabalho, exibiu pequenas partículas esféricas com a presença de partículas aglomeradas. Porém, como apontado por Moreno (2015) que comparou hidroxiapatidas obtidas pelo método de precipitação através de diferentes tratamentos térmicos, as amostras sem tratamento apresentaram partículas aglomeradas e com tratamento de 900°C essas partículas apresentavam sua morfologia quase esférica. No presente trabalho, através das imagens do MEV é possível observar que partículas finas

foram obtidas, porém o intuito de obter-se partículas nanométricas não foi atingido, o que pode estar relacionado com os parâmetros de controle da síntese, pois pequenas variações no pH ou temperaturas utilizadas na síntese podem variar a estrutura da amostra.

Figura 11 – Micrografias da hidroxiapatita obtida por Rigo, Gehrke e Carbonari (2007).

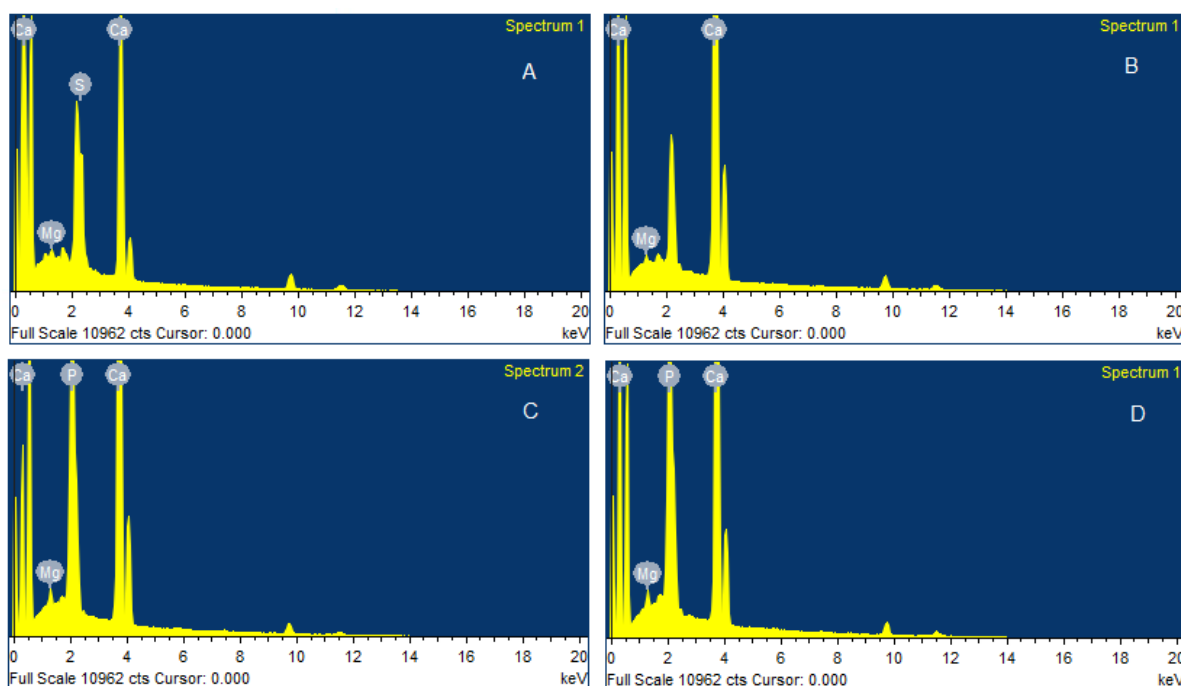


Fonte: Adaptado de Rigo, Gehrke e Carbonari (2007).

A Figura 11 apresenta a amostra de hidroxiapatita obtida por Rigo, Gehrke e Carboni (2007) a partir do método de precipitação química. Assim como nos resultados obtidos nas Figuras 10-C e 10-D os resultados apresentados na Figura 11 demonstram uma morfologia fina da amostra e por apresentar uma ampliação maior é possível observar a presença de partículas quase esféricas, aglomeradas, mostrando que ambas amostras obtidas estão de acordo com o esperado.

Além da morfologia por MEV, realizou-se a análise de espectroscopia dispersiva (EDS), com o objetivo de verificar a composição da casca do ovo e das amostras obtidas, como pode ser observada na Figura 12, e na Tabela 2 é possível visualizar a média em massa das amostras.

Figura 12 – Espectroscopia dispersiva da casca de ovo e hidroxiapatitas A) Pó da casca de ovo; B) Casca C.; C) HIDROXI-1; D) HIDROXI-24;



Fonte: Da autora, 2020.

Tabela 2 – Quantidades de cada elemento químico presentes pela análise em EDS

	Média (% massa)			
	Mg	S	Ca	P
<b>Pó da casca de ovo</b>	1,052 ± 0,988	9,702 ± 5,5	89,246 ± 6,341	—
<b>C. Calcinada</b>	1,32 ± 0,537	—	98,68 ± 0,537	—
<b>HIDROXI-1</b>	0,85 ± 0,059	—	68,766 ± 0,604	30,39 ± 0,579
<b>HIDROXI-24</b>	0,812 ± 0,185	—	69,894 ± 0,864	27,494 ± 4,19

Fonte: Da autora, 2020.

A Figura 12-A apresenta a análise de EDS do pó da casca de ovo, a qual é composta por uma grande quantidade de cálcio (Ca) e pequenas proporções de magnésio (Mg) e enxofre (S). Os resultados se mostram semelhantes aos obtidos pelo estudo de obtenção de HA a partir da casca de ovo para aplicações

biomédicas, utilizando o método de precipitação química de Santos et al. (2018), o qual encontraram através do EDS grande quantidade de cálcio, além de pequena quantidade de magnésio, bem como o estudo da valorização de resíduo de casca de ovo na obtenção de aluminato de cálcio via ativação mecânica de Luna (2018). Conforme o estudo de extração e avaliação da membrana da casca do ovo de Santos et al. (2017), a presença de enxofre na amostra da casca pura pode ser explicada em virtude da membrana interna que recobre a casca de ovo, pois esta película normalmente apresenta enxofre em sua composição, assim o aparecimento deste elemento na análise de EDS pode estar ligado ao fato de que nem todas as cascas obtidas para o experimento foram retiradas as membranas ao serem lavadas.

A Figura 12-B apresenta a amostra da casca de ovo calcinada, sendo composta em maior quantidade por cálcio e uma presença irrelevante de magnésio. Os resultados obtidos foram semelhantes aos obtidos por Santos et al. (2018). É possível observar através da Tabela 2 a presença predominante de cálcio, em torno de 98,68 % após a calcinação da casca de ovo, com quase 100% de Ca pode-se inferir que a casca de ovo de galinha é uma fonte viável de cálcio, sendo rica neste elemento e podendo ser um potencial precursor de hidroxiapatita. Já as Figura 12-C e 12-D mostram os resultados de EDS das amostras de hidroxiapatitas, HIDROXI-1 e HIDROXI-24, respectivamente, ambas amostras são compostas predominantemente por cálcio e fósforo, com uma pequena quantidade de magnésio, sendo comprovado através da Tabela 2 que os valores presentes de magnésio são pequenos, não chegando a 1%. A partir da Tabela 2 é possível verificar a relação Ca/P das amostras obtidas. A HIDROXI-1 apresenta uma relação Ca/P de aproximadamente 2,16 enquanto a HIDROXI-24 exibe uma relação de 2,24. Segundo Mohd Pu'ad et al. (2019) a variação da relação Ca/P está associada ao pH que é um parâmetro de controle da síntese, a medida em que o pH aumenta a relação Ca/P também aumenta. O pH deve estar entre 9,5 a 12 para obter-se uma hidroxiapatita estequiométrica, se ele se encontrar fora dessa faixa além de influenciar na relação Ca/P, também propiciará o surgimento de outros fosfatos de cálcio que na obtenção da HA podem ser considerados como impurezas.

A relação molar de Ca/P superior à 1,67, observada pela literatura de Wu et al. (2016), assim como a comparada com a da HA estequiométrica, pode ser atribuída à presença de íons carbonato substituindo o fosfato. Este tipo de HA é típica da fase mineral de apatita no osso natural, onde os carbonatos contribuem fortemente para a variação da relação de Ca/P. Outros estudos têm observado elevada relação Ca/P em HA obtidas a partir de ossos de bovinos (WU et al., 2016).

O magnésio é um elemento importante presente em tecidos calcificados e que desempenha um papel chave no metabolismo do osso (VIDHYA et al., 2019). Ainda, segundo o estudo sobre efeitos do tratamento com calor sobre a síntese de hidroxiapatita a partir de pós de cascas de ovo de WU et al. (2015), o Mg em particular pode influenciar os processos de metabolismo, formação e cristalização dos minerais ósseos, sendo relatado que a hidroxiapatita com a presença de Mg resulta em uma melhor estabilização, juntamente com uma melhoria significativa na ligação e crescimento de osteoblastos, quando comparado com a HA pura ou estequiométrica. Os resultados das amostras de HA obtidos por EDS foram semelhantes aos obtidos por Borges (2018), o qual estudou a hidroxiapatita dopada com metal de transição, em que obteve como resultado por EDS grande presença de cálcio e fósforo, principais elementos da hidroxiapatita, além de apresentar uma pequena quantidade de zinco devido a adição desse elemento nas amostras. Já Santos et al. (2005) obtiveram, através do EDS apenas cálcio e fósforo em sua amostra de hidroxiapatita, devido à mesma apresentar uma relação estequiométrica de 1,67.

Além dos parâmetros pH e temperatura, o tempo de envelhecimento é uma variável crítica para pureza e cristalinidade da amostra. Segundo Boiko (2009) e Ummartyotin e Tangnorawich (2015), um envelhecimento longo, além de um gotejamento lento do ácido na reação, influenciam em uma hidroxiapatita com alta cristalinidade e mais próxima da relação estequiométrica. Em seu estudo Boiko (2009) avaliou a influência do tempo de envelhecimento na obtenção de compósitos de hidroxiapatita mais colágeno bovino, utilizando tempos de envelhecimento de 1, 14 e de 30 dias.



A grande maioria dos estudos da obtenção de hidroxiapatita a partir da casca de ovo de galinha utilizam tempos de envelhecimento de 1 e 24 horas, como os utilizados no presente trabalho. Porém, ambos apresentaram resultados muito próximos em relação à análise termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia dispersiva. Na análise de TGA a diferença de perda massa entre as amostras foi pequena, variando 0,3%, já no MEV e EDS não é possível verificar uma diferença entre as amostras, ambas obtiveram resultados muito próximos, alterando apenas na relação Ca/P, onde a HIDROXI-1 obteve 2,16 e a HIDROXI-24 obteve 2,24, estando associado ao controle do pH e temperatura da síntese. Devido à diferença no tempo de envelhecimento ser pequeno não foi possível observar nitidamente a influência desse parâmetro nas amostras, seria necessário utilizar uma diferença maior, de dias por exemplo, como utilizado por Boiko (2009), sendo também necessário uma análise de difração de raio X (DRX) para poder avaliar a influência do tempo de envelhecimento na variação da cristalinidade e pureza da hidroxiapatita obtida. Para obter com maior precisão a cristalinidade, a pureza da hidroxiapatita e o aparecimento ou não de outros fosfatos são necessárias análises mais precisas como a difração de raio X e a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.

## 5 CONCLUSÃO

A casca de ovo de galinha é um resíduo não tóxico, porém é um resíduo gerado e descartado em larga escala. A utilização da casca de ovo se mostrou favorável para obtenção do óxido de cálcio, bem como um precursor para a obtenção de hidroxiapatita, sendo uma rota alternativa para a redução desses resíduos no meio ambiente, além do desenvolvimento de um biomaterial com matéria-prima proveniente de resíduos e de baixo custo.

A partir da casca de ovo obteve-se o óxido de cálcio através da calcinação a 800°C por 3 horas, logo, é uma fonte viável e possibilita seu uso como um precursor de cálcio na obtenção de hidroxiapatita. Através da análise termogravimétrica foi possível verificar pouca perda de massa das duas amostras de hidroxiapatita, característica de materiais cerâmicos, além disso a investigação das propriedades morfológicas exibiram partículas em formato quase esférico e aglomerados, que estão de acordo com a literatura, bem como a análise de EDS que apresentou elevada concentração de cálcio e fósforo, porém, apresentou uma pequena quantidade de magnésio que é um elemento importante presente em tecidos calcificados e que desempenha um papel chave no metabolismo do osso.

A obtenção de uma hidroxiapatita não estequiométrica com relação Ca/P de 2,16 para a HIDROXI-1 e 2,24 para a HIDROXI-24 está relacionada ao controle dos parâmetros críticos da síntese, pH e temperatura. A apresentação desses resultados demonstram que houve uma variação desses parâmetros durante a síntese o que pode acarretar no aparecimento de outros fosfatos de cálcio, considerados na síntese de hidroxiapatita como impurezas.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. C. **Síntese e caracterização de Scaffolds de Hidroxiapatita para aplicações na regeneração óssea**. Monografia (Graduação) – Curso de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

AZEVEDO, A. G. S., STRECKER, K., GORGULHO, H. F. **Efeito da temperatura em processos de sinterização de pós de hidroxiapatita**. Cerâmica, v. 61, nº 357, São Paulo, 2015.

BARBOSA, A. A. **Estudo da conversão química de compósitos a base de gesso em hidroxiapatita**. 202, 120 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos materiais, UNIVASF, Bahia, 2012.

BARROS, C. M. B.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; VIANA, K. M. S.; COSTA, A. C. F. M. Analysis of the hydroxyapatite incorporate MTA dental application. Materials Science Forum, v. 727-728, p. 1381-1386, 2012.

BET, M. R.; GOISSIS, G.; PLEPIS, A. M. D. G. Compósitos Colágeno Aniônico: Fosfato de Cálcio. Preparação e Caracterização. **Química Nova**, São Carlos, v. 20, n. 5, p. 475-477, 1997.

BOIKO, J. **Influência da secagem e do tempo de envelhecimento na obtenção de compósitos de hidroxiapatitas-colágeno bovino**. Dissertação (Pós-Graduação) em química aplicada, UEPG, Ponta Grossa, 2009.

BORGES, E. B.; **Síntese e caracterização de hidroxiapatita dopada com metal de transição**. Monografia (Graduação) – Curso de Química industrial, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

BORON, L. **Citrato de cálcio da casca do ovo: biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. 2004, 113 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

BOSE, S.; BANDYOPADHYAY, A. (Eds.) **Characterization of Biomaterials**. Amsterdam: Elsevier, 2013.

CARTER, C. B.; NORTON, M. G. **Ceramic Materials: Science and Engineering**. 2. ed. New York: Springer, 2013.

CASTRO, L. S.; BARAÑANO, A. G.; PINHEIRO, C. J. G.; MENINI, L.; PINHEIRO, P. F. **Biodiesel production from cotton oil using heterogeneous CaO catalysts from eggshells prepared at diferente calcination temperatures**. De Gruyter, Green Process Synth, v. 8, p. 235-244, 2019.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. UFCG, Campina Grande. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.4, n. 3, p. 29-38, 2009.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.

DERKUS, B. ARSLAN, Y. E.; EMREGUL, K. C.; EMREGUL, E. Enhancement of Aptamer Immobilization Using Egg Shell-Derived Nano-Sized Spherical Hydroxyapatite for Thrombin Detection in Neuroclinic. **Talanta**, v. 158, p. 100-109, 2016.

FERRO, A. C.; GUEDES, M. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite using cuttlefish bone and chicken eggshell as calcium precursors. **Materials Science and Engineering**, v. 97, p. 124-140, 2018.

FIGUEIRA, C. H. **Aproveitamento da casca de ovo para Aplicações Industriais**. 2014, 51 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia do Meio Ambiente, Universidade de Coimbra, Lisboa, 2014.

FREIRE, M. N.; HOLANDA, J. N. F. Characterization of avian eggshell waste aiming its use in a ceramic wall tile paste. **Cerâmica**, v. 52, p. 240-244, 2006.

GOMES, L.C.; DI LELLO, B. C.; CAMPOS, J.B.; SAMPAIO, M. Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio a partir da casca de ovo de galinha. **Cerâmica**, v. 58, n. 348, p. 448-452, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agroalimentar 2018**. 2019. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9216-pesquisa-trimestral-da-producao-de-ovos-de-galinha.html?edicao=16250>>. Acesso em 18 ago. 2019.

KARAMPAS, I. A.; KONTOYANNIS, C. G. Characterization of calcium phosphates mixtures. **Vibrational Spectroscopy**, v. 64, p. 126-133, 2013.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; DOS REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.

LEE, S. W.; KIM, S. G.; BALÁZSI, C.; CHAE, W. S.; LEE, H. O. Comparative study of hydroxyapatite from eggshells and synthetic hydroxyapatite for bone regeneration. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral pathology and Oral Radiology**, v. 113, n. 3, p. 348-355, 2012.

LUNA, F. S. M.; **Valorização de resíduo de casca de ovo na obtenção de aluminato de cálcio via ativação mecânica**. Tese de doutorado – Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2018.

MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como removedora de chumbo**. 1999, 126 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

MOHD PU'AD, N. A. S.; KOSHY, P.; ABDULAH, H. Z.; IDRIS, M. I.; LEE, T. C. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. **Heliyon**, v. 5, n. 5, 2019. Disponível em: < [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(18\)36894-4?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844018368944%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(18)36894-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844018368944%3Fshowall%3Dtrue) >. Acesso em: 10 out. 2019.

MORENO, G. G. **Síntese da hidroxiapatita utilizando casca de ovo de codorna como fonte alternativa de cálcio**. 2015, 48 f. Monografia (Graduação) – Curso de Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.

MURAKAMI, F. S.; RODRIGUES, P. O.; DE CAMPOS, C. M. T.; SILVA, M. A. S. Physicochemical study of  $\text{CaCO}_3$  from egg shells. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 658-662, 2007.

PARK, J.; LAKES, R. S. **Biomaterials**: An Introduction. 3. ed. New York: Springer, 2007.

- PEREIRA, J. G.; OKUMURA, F.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G.  
Termogravimetria: Um novo enfoque para a clássica determinação de cálcio em cascas de ovos. **Química Nova**, v. 32, n. 6. São Paulo, 2009.
- PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.
- RAMESH, S.; NATASHA, A. N.; TAN, C. Y.; BANG, L. T.; CHING, C. Y.; CHANDRAN, H. Direct conversion of eggshell to hidroxyapatite ceramic by a sintering method. **Ceramics International**, v. 42, p. 7824 – 7829, 2016.
- RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. (Eds.)  
**Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2004.
- RIGO, E. C. da S.; GEHRKE, S. A.; CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. **Revista Dental Press Periodontia e Implantologia**, v. 1, n. 3, p. 39-50, 2007.
- SADAT-SHOJAI, M.; KHORASANI, M. T.; DINPANAH-KHOSHDARGI, E.; JAMSHIDI, A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591-7621, 2013.
- SAMPAIO, W. C.; CARVALHO, L. A. N. de; BRETTAS, M. L. Avanços no Desenvolvimento de Biomateriais Visando Tratamento de Feridas Crônicas. **Hegemonia – Revista Eletrônica do Programa de Mestrado em Direitos Humanos, Cidadania e Violência**, n. 25, p. 70-105, 2018.

- SANTOS, A. G. A.; CÂNDIDO, C. S.; SILVA, A. C. R. da; MONTEIRO, S. N. Obtenção e Caracterização de Hidroxiapatita Obtida a Partir de Casca de Ovo de Galinha para Aplicação em Biocerâmicas. p. 1177 – 1185. In: **73º Congresso Anual da ABM**, São Paulo, 2018. Disponível: <<https://abmproceedings.com.br/ptbr/article/obteno-e-caracterizao-de-hidroxiapatita-obtida-a-partir-de-casca-de-ovo-de-galinha-para-aplicao-em-biocermicas>> Acesso em: 20 Out. 2019.
- SANTOS, M. L.; FLORENTINO, A. O.; SAEKI, M. J.; APARECIDA, A. H.; FOOK, M. V. L.; GUASTALDI, A. C. **Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico**. Eclética Química, v. 30, nº 3, p. 29-35, São Paulo, 2005.
- SANTOS, K.O.; BEZERRA, A. G. J.; BARBOSA, R. C.; TORRES, R. H. N.; FOOK, M. V. L.; SOUSA, W. J. B.; PEDROSA, T. C.; RODRIGUES, J. B.; COLASSO, R. M. R. Extração e avaliação da membrana da casca do ovo para possível utilização como biomaterial. In: **14º Congresso SLABO**, São Paulo, 2017.
- SANTOS, A. F., ARIM, A. L., LOPES, D. V., FERREIRA, L. M. G., QUINA, M. J. Recovery of phosphate from aqueous solutions using calcined eggshell as an eco-friendly adsorbent. **Journal of environmental management**, v. 238, p. 451-459, 2019.
- SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; KORSTAD, J. **Application of an efficient nonconventional heterogeneous Catalyst for Biodiesel Synthesis from *Pongamia pinnata* Oil**. Energy Fuels, v. 24, p. 3223-3231, 2010.
- SOUZA, F. M.; ALMEIDA, T. G.; CANEDO, E. L.; BARBOSA, R. C.; FOOK, M. V. L. Síntese e caracterização de membranas porosas de quitosana com hidroxiapatita obtida a partir da casca do ovo de galinha. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 12, n. 3, p. 205-211, 2017.



TAMASAN, M.; OZYEGIN, L. S.; OKTAR, F. N.; SIMON, V. Characterization of calcium phosphate powders originating from *Phyllacanthus imperialis* and *Trochidae Infundibulum concavus* marine shells. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 2569–2577, 2013.

TOMASELLI, M. G. **Síntese e caracterização de Hidroxiapatita obtida a partir da casca de ovo da galinha**. 2014, 78 f. Monografia (Graduação) – Curso de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

TRAKOOLWANNACHAI, V.; KHEOLAMAI, P.; UMMARTYOTIN, S. Characterization of hydroxyapatite from eggshell waste and polycaprolactone (PCL) composite for scaffold material. **Composites Part B**, v. 173, p. 1-7, 2019.

UMMARTYOTIN, S.; TANGNORAWICH, B. Utilization of eggshell waste as raw material for synthesis of hydroxyapatite. **Colloid and Polymeric Science**, v. 293, n. 9, p. 2477-2483, 2015.

VASSAL, M. F.; PEREIRA, J. N.; MIGUEL, S. P.; CORREIA, I. J.; SILVA, A. P. Microstructural, mechanical and biological properties of hydroxyapatite - CaZrO<sub>3</sub> biocomposites. **Ceramics International: Part A**, v. 45, p. 8195 – 8203, 2019.

VIDHYA, G.; KUMAR, G. S.; KATTIMANI, V. S.; GIRIJA, E. K. Comparative study of hydroxyapatite prepared from eggshells and synthetic precursors by microwave irradiation method for medical applications. **Materials Today: Proceedings**, v. 15, p. 344-352, 2019.

VOLKMER, T. M. **Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método gelcasting de espumas para uso como implantes**. 2006, 115 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

WAHEED, M.; BUTT, M. S.; SHEHZAD, A.; ADZAHAN, N. M.; SHABBIR, M. A.; SULERIA, H. A. R.; AADIL, R. M. Eggshell calcium: A cheap alternative to expensive supplements. **Trends in Food Science e Tecnology**, n. 91, p. 219-230, 2019.

WU, S. C.; HSU, H. C.; HSU, S. K.; CHANG, Y. C.; HO, W. F. Synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders through ball milling and heat treatment. **Journal of Asian Ceramic Societies**, v. 4, p. 85 - 90, 2016.

WU, S.; HSU, H.; HSU, S.; CHANG, Y.; HO, W. Effects of heat treatment on the synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders. **Ceramics International**, v. 41, n. 9, p. 10718-10724, 2015.

ZHANG, G.; CHEN, J.; YANG, S.; YU, Q.; WNAG, Z.; ZHANG, Q. Preparation of amino-acid-regulated hydroxyapatite particles by hydrothermal method. **Materials Letters**, v. 65, n. 3, p. 572-574, 2011.

ZHOU, H.; LEE, J. Nanoscale hidroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 2769 – 2781, 2011.